

РОЛЬ NO И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ПОРЫ В РАЗВИТИИ МЫШЕЧНОГО УТОМЛЕНИЯ

Богуславский А.Ю.¹, Дмитриева А.В.², Сагач В.Ф.²

*Херсонский государственный университет¹, Украина
Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАНУ², Украина*

Исследования последних десятилетий свидетельствуют, что NO не только один из основных модуляторов сосудистого тонуса, но еще и мощный эндогенный регулятор сократительной активности миокарда и скелетных мышц, интенсивности окислительного фосфорилирования и внутриклеточного уровня кислорода [5, 6]. Следует отметить, что как на эти процессы, так и на функциональное состояние органа существенное влияние оказывает открытие митохондриальной поры (МП) [4]. В тоже время недавно полученные данные указывают на то, что NO может модулировать чувствительность МП к действию активаторов [3, 6]. Анализируя данные факты можно предположить, что регуляция сократительной активности, кислородных показателей и чувствительности МП - взаимосвязанные элементы NO-зависимой адаптивной реакции, нарушения которой может лежать в основе периферических механизмов утомления. Поэтому, целью предпринятого нами исследования стало изучение регионарных гемодинамических реакций, кислородных и силовых параметров работы икроножной мышцы собаки в условиях ее длительной нагрузки, а также роли NO и МП в этих процессах.

Материал и методы исследования

Эксперименты выполнены *in vivo* на наркотизированных собаках под хлоралозо-уретановым наркозом (0,05 та 0,5 г/кг, в/в) с премедикацией кетамин (5 мг/кг, в/м). Было проведено четыре серии экспериментов: контрольная серия, серия с ингибиторами открытия МП, серии с ингибитором NO синтаз (NOS) и донором NO. В ходе эксперимента регистрировали: артериальное давление и кровоток в бедренной артерии, парциальное давление кислорода в артериальной и венозной крови, силу мышечных сокращений (СМС). Рассчитывали среднее артериальное давление, сосудистое сопротивление (СС), объемную скорость потребления кислорода и кислородную стоимость работы икроножной мышцы (КСР) [1]. Утомление икроножной мышцы, как и ее предварительную нагрузку, проводили путем прямой электрической стимуляции (8 Гц, 5 мс, 20 В) [1]. В экспериментах были использованы: ингибитор NOS N^G- монометил-L-аргинин (2,7 мг/кг,

L-NMMA, Sigma, USA), ингибиторы открытия МП – мелатонин (0,75 мг/кг, Украина), циклоспорин А (0,012 мг/кг, Sigma, USA), донор NO – нитропруссид натрия (0,2 мг/кг, НН, Sigma, USA). Открытие МП определяли путем спектрофотометрической регистрации в венозной крови митохондриального фактора (МФ) [2]. Полученные данные обработаны с помощью критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

Электрическая стимуляция икроножной мышцы собаки в контрольных условиях сопровождалась выраженной реакцией функциональной гиперемии. При этом кровоток в бедренной артерии повышался с $47 \pm 4,3$ мл/м до $64 \pm 4,5$ мл/м ($p < 0,05$), а СС в этом регионе падало почти в 2 раза. Не смотря на такой позитивный характер гемодинамической реакции, СМС прогрессивно снижалась на протяжении всей стимуляции. Величина падения сократительной активности икроножной мышцы составила более 40%, что позволило говорить о ее утомлении. При этом резко возрастала КСР: с $99 \pm 8,16$ $\text{мл} \times \text{м}^{-1} \times \text{Н}^{-1} \times \text{кг}$ во время первой стимуляции до $256 \pm 15,18$ $\text{мл} \times \text{м}^{-1} \times \text{Н}^{-1} \times \text{кг}$ во время десятой ($p < 0,01$). Утомление мышцы сопровождалось открытием МП, о чем свидетельствовали результаты спектрофотометрического анализа проб крови. Так, в оттекающей крови после пятой стимуляции в диапазоне длин волн 230 - 260 нм было зарегистрировано максимальное повышение оптической плотности, которое составляло $0,272 \pm 0,02$ и было обусловлено наличием МФ. Наши предварительные исследования и результаты экспериментов с использованием селективного блокатора открытия МП – циклоспорина А подтверждают, что МФ является достоверным маркером открытия МП.

В другой серии экспериментов в качестве ингибитора открытия МП был использован мелатонин. При этом характер гемодинамических реакций в двух сериях не отличался, однако динамика сократительной активности икроножной мышцы была существенно разной. Так, в условиях предварительного введения мелатонина падение СМС было меньше 20% - утомление не развивалось. Это сопровождалось значительно более стабильными кислородными показателями работы мышцы, чем в контроле. Кроме того, спектрофотометрические данные свидетельствовали об отсутствии МФ в пробах оттекающей крови. Таким образом, при предварительном введении мелатонина не происходило открытие МП, что в свою очередь предупреждало утомление и снижение эффективности использования кислорода икроножной мышцей.

В следующей серии экспериментов предварительное введение

L-NMMA существенно угнетало эндотелий-зависимую дилатацию сосудов бассейна бедренной артерии. Так, максимальная амплитуда рабочей гиперемии составляла всего $20 \pm 1,5\%$ (в контроле - $36 \pm 3,2\%$, $p < 0,01$). В ответ на длительную стимуляцию снижалась сократительная активность икроножной мышцы до $2,93 \pm 0,13$ Н/кг (в контроле $3,52 \pm 0,2$ Н/кг, $p < 0,05$) – развивалось утомление. Это сопровождалось значительным повышением КСР как в начальный период стимуляции, так и на протяжении последующей нагрузки. В тоже время, в пробах крови, оттекающей от работающей мышцы, после пятой стимуляции был обнаружен МФ ($0,22 \pm 0,02$), что свидетельствовало об активации МП. Таким образом, длительная нагрузка икроножной мышцы в условиях блокады NOS сопровождалась открытием МП и приводила к еще большему снижению функционального состояния мышцы, чем в контроле.

В следующей серии экспериментов премедикация донором NO повышала как исходные показатели объемной скорости кровотока, так и значительно увеличивала величину функциональной гиперемии. Динамика СМС в этой серии также существенно отличалась от контроля. Так, в течении стимуляции мышцы падение сократительной активности не носило такого выраженного прогрессирующего характера как в контрольных условиях. При этом падение СМС было меньше 20% - утомление не развивалось. В тоже время повышение КСР на фоне введения НН было достоверно меньшим, чем в условиях блокады NOS. Спектрофотометрические данные, полученные в этой серии экспериментов, указывают, что длительная нагрузка икроножной мышцы не приводила к открытию МП (величина МФ более чем в 20 раз меньше контрольной). Таким образом, премедикация донором NO предупреждала активацию МП, угнетение силовых и кислородных параметров работы икроножной мышцы в условиях ее длительной нагрузки.

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы. Открытие МП, наряду с другими механизмами, принимает активное участие в развитии мышечного утомления. В то же время NO, угнетая открытие МП, предупреждает уменьшение сократительной активности икроножной мышцы, значительное повышение КСР – то есть развитие утомления при ее длительной нагрузке.

Література

1. Богуславський А.Ю., Дмитрієва А.В., Сагач В.Ф. Вплив NO на ефективність використання кисню працюючим скелетним м'язом при його втомленні // Фізіол. ж. - 2005 - Т.51, № 1. - С.27-34.

2. Надточій С.М., Богуславський А.Ю., Сагач В.Ф. Вивчення стабільного фактору мітохондріального походження in vivo // Фізіол. журн.- 2003.- т.49, №5.- С.25-31.

3. Brookes P. S., Salinas E. P., Darley-USmar K. et al. Concentration-dependent effect of nitric oxide on mitochondrial permeability transition and cytochrome c release // J. Biol. Chem.-2000.-275.-27.-P. 20474-20479

4. Crompton M, Barksby E., Johnson N. and Capano M. Mitochondrial intermembrane junctional complexes and their involvement in cell death // Biochimie. - 2002. - 84. - P.143-152.

5. Marechal G., Gailly P. Effects of nitric oxide on the contraction of skeletal muscle // Cell. Mol. Life Sci.-1999.-55(8-9).-P. 1088-1102.

6. Moncada S., Erusalimski J. Does nitric oxide modulate mitochondrial energy generation and apoptosis? // Natural Reviews. Mol. Cell. Biol.- 2002.- Vol.3 - P.214-220.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ПЕЩЕРИСТЫХ ТЕЛ КРОЛЯ, ВЫЗВАННОЙ ПЕРЕКИСЬЮ ВОДОРОДА

Бурый В.А., Гурковская А.В., Суханова К.Ю. Сагач В.Ф.

Институт физиологии им. А.А.Богомольца НАНУ, Украина

Эрекция наступает при уменьшении тонуса корпоральных гладкомышечных клеток (ГМК) с последующим увеличением притока крови к пещеристым телам и наполнением их кровью. Основным фактором, приводящим к расслаблению ГМК, является окись азота, освобождающаяся как из нервных окончаний, так и с эндотелиальных клеток корпуса [1]. Помимо расслабляющего фактора, эндотелиальные клетки сосудов продуцируют и сокращающий фактор. На роль сокращающего фактора предлагался анион супероксида [2] или один из простаноидов [3]. Анион супероксида, перекись водорода (H_2O_2) и радикал гидроксила являются наиболее важными реактивными формами кислорода (РФК). В организме супероксидный радикал метаболизируется до H_2O_2 , а H_2O_2 генерирует радикал гидроксила. Модифицируя различные белки, РФК способны изменять механизмы транспорта ионов и влиять на сосудистый тонус, в том числе и тонус ГМК пещеристых тел. В предыдущих исследованиях мы показали, что H_2O_2 вызывает сложную реакцию, состоящую из кратковременного понижения и последующего повышения тонуса ГМК пещеристых тел [4]. Начальное расслабление зависело от эндотелия и, по-видимому, опосредовано активацией гуанилатциклазного сигнального пути на уров-